

PUB-NO: DE004035714A1

DOCUMENT-IDENTIFIER: DE 4035714 A1

TITLE: Dipole moment and/or concn. measurement - by capacitive
measurement of dielectric constant in presence of charge
carrier

PUBN-DATE: May 27, 1992

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
BAUSER, HERBERT	DE
GUNSILIUS, HARALD	DE
HELLWIG, GUENTER	DE
OTTO, MANFRED	DE

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
FRAUNHOFER GES FORSCHUNG	DE

APPL-NO: DE04035714

APPL-DATE: November 9, 1990

PRIORITY-DATA: DE04035714A (November 9, 1990)

INT-CL (IPC): C12Q001/00, G01N027/22 , G01N033/53 , G01R027/26

EUR-CL (EPC): G01N027/22

ABSTRACT:

Measurement of the dipole moment and/or concn. of a cpd. (I) dissolved in a fluid is effected by: (a) adding a charge carrier (II) to the fluid, where (II) has a lower relaxation frequency than (I); (b) introducing the fluid into a capacitor whose electrodes are masked from the fluid by insulating layers; (c) exposing the fluid to an AC electric field; (d) measuring the dielectric constant as a function of frequency; and (e) determining the dipole moment or

concn. of (I) from the change in dielectric constant induced by (I). USE - The process may be used to measure the concn. of biological substances (e.g. cytochrome C), to monitor the enzymatic degradation of substances (e.g. pectin), or to monitor the formation of intermediate states, redox forms or complexes by enzymes, antigens, antibodies, etc.



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenl gungsschrift
⑩ DE 40 35 714 A 1

⑤1 Int. Cl. 5:
G 01 N 27/22
G 01 N 33/53
G 01 R 27/26
C 12 Q 1/00
// C 07K 15/28

②1 Aktenzeichen: P 40 35 714.7
②2 Anmeldetag: 9. 11. 90
④3 Offenlegungstag: 27. 5. 92

DE 40 35 714 A 1

⑦1 Anmelder:
Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der
angewandten Forschung eV, 8000 München, DE

⑦4 Vertreter:
Münich, W., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw.;
Steinmann, O., Dr., Rechtsanwalt, 8000 München

⑦2 Erfinder:
Bauser, Herbert; Gunsilius, Harald; Hellwig, Günter,
7000 Stuttgart, DE; Otto, Manfred, 7403 Ammerbuch,
DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Verfahren zur Messung des Dipolmoments von in einem Fluid gelösten Molekülen und/oder der
Konzentration von Molekülen mit einem Dipolmoment in einem Fluid

⑤7 Beschrieben wird ein Verfahren zur Messung des Dipol-
moments von in einem Fluid gelösten Molekülen und/oder
der Konzentration von Molekülen mit einem Dipolmoment in
einem Fluid, mit einer kapazitiven Anordnung, in die das
Fluid einbringbar ist, und die mit einem elektrischen Wech-
selfeld beaufschlagt wird.
Die Erfindung zeichnet sich dadurch aus, daß das Fluid
Ladungsträger enthält, deren Relaxationsfrequenz kleiner als
die der ein Dipolmoment aufweisenden Moleküle ist, daß die
Elektroden der kapazitiven Anordnung durch eine Isolations-
schicht gegen das Ladungsträger enthaltende Fluid isoliert
sind, und daß aus der Änderung der in Abhängigkeit von der
Frequenz gemessenen Dielektrizitätszahl aufgrund der Di-
polmomente aufweisenden Moleküle die Größe des Dipol-
moments bzw. die Konzentration der Moleküle bestimmt
wird.

DE 40 35 714 A 1

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Messung des Dipolmoments von in einem Fluid gelösten Molekülen und/oder der Konzentration von Molekülen mit einem Dipolmoment in einem Fluid, mit einer kapazitiven Anordnung, in die das Fluid einbringbar ist, und die mit einem elektrischen Wechselfeld beaufschlagt wird.

Eine der Eigenschaften von biochemischen Makromolekülen wie Proteinen und Nucleinsäuren ist ihr elektrisches Dipolmoment. Dieses Dipolmoment kann grundsätzlich mittels der dielektrischen Relaxation gemessen werden.

Moleküle mit Dipolmomenten in einer bestimmten Lösung erzeugen in einem elektrischen Wechselfeld bei einer jeweils molekültypischen Relaxationsfrequenz ein Maximum der dielektrischen Verluste und eine Stufe im Realteil der komplexen Dielektrizitätszahl.

Zur Messung des Dipolmoments wird deshalb gemäß dem Stand der Technik die komplexe Kapazität und/oder der Verlustfaktor im Bereich der Relaxationsfrequenz gemessen. Das Dipolmoment kann dann aus dem Relaxationsbetrag, d. h. aus der Differenz der Dielektrizitätszahlen bei tiefen (ϵ_s) und hohen Frequenzen (ϵ_∞) ermittelt werden. Alternativ kann das Dipolmoment aus dem Integral über die frequenzabhängigen dielektrischen Verluste (bei Auftragung über dem Logarithmus der Frequenz) bestimmt werden. Zur praktischen Durchführung der Messung werden die Substanzen meist in ein organisches Lösungsmittel verbracht (was bei vielen Proteinen und anderen Biomolekülen problematisch ist), um durch Ausnützung der elektrisch isolierenden Eigenschaften den störenden Einfluß von elektrischen Leitungsphänomenen auszuschalten. Die Messung erfolgt — je nach Frequenz — in einem Kondensator oder in einem Hohlraumresonator oder dergleichen.

Häufig erschweren jedoch zwei Probleme die Messung:

Die Relaxationsfrequenz ist insbesondere bei kleinen Molekülen sehr hoch und liegt typischerweise zwischen 1 GHz und 100 GHz. Darüberhinaus sind die Relaxationssignale vergleichsweise klein. Aus beiden Gründen sind die Relaxationsbanden im Verlustspektrum der direkten Messung nur mit aufwendigen Geräten zugänglich. Selbst bei Proteinen, bei denen zuweilen recht hohe Dipolmomente auftreten können (z. B. einige hundert Debye), sind die direkten Relaxationssignale relativ klein, wenngleich die Relaxationsfrequenzen in diesem Fall niedriger liegen.

Es ist deshalb Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zur Messung des Dipolmoments von in einem Fluid gelösten Molekülen und/oder der Konzentration von Molekülen mit einem Dipolmoment in einem Fluid, mit einer kapazitiven Anordnung, in die das Fluid einbringbar ist, und die mit einem elektrischen Wechselfeld beaufschlagt wird, derart weiterzubilden, daß zum leichteren Nachweis der dielektrischen Signale von Dipolmomenten die Messung bei vergleichsweise niedrigen Frequenzen und mit einer vergleichsweise großen Signalgröße durchgeführt kann.

Eine erfindungsgemäße Lösung dieser Aufgabe ist mit ihren Weiterbildungen in den Patentansprüchen gekennzeichnet. Erfindungsgemäß enthält das Fluid Ladungsträger, deren Relaxationsfrequenz kleiner als die der ein Dipolmoment aufweisenden Moleküle ist. Weiterhin sind die Elektroden der kapazitiven Anordnung durch eine Isolationschicht gegen das Ladungsträger

enthaltende Fluid isoliert.

Damit ist es möglich, bei niedrigeren Frequenzen, die häufig sogar unterhalb von 10 MHz und manchmal sogar noch um Größenordnungen unter diesem Wert liegen, aus der Änderung der in Abhängigkeit von der Frequenz gemessenen Dielektrizitätszahl nach dem Einbringen der Dipolmomente aufweisenden Moleküle in das Fluid bei bekannter Konzentration die Größe des Dipolmoments bzw. bei bekanntem Dipolmoment die Konzentration der Moleküle zu bestimmen.

Die Erfindung geht dabei von dem Grundgedanken aus, die üblicherweise als störend empfundene Anwesenheit von — bereits vorhandenen oder absichtlich dem Lösungsmittel zugefügten — Ladungsträgern zur empfindlichen Messung des Dipolmoments von gelösten Molekülen auszunützen. Hierzu wird eine kapazitive Meßsonde verwendet, deren Elektroden durch eine dünne Isolatorschicht gegen die Meßflüssigkeit isoliert sind, so daß die Ladungsträger die Meßsonde nicht "kurzschließen können". Die Meßsonde kann dabei ein Plattenkondensator, aber auch eine andere kapazitive Anordnung, beispielsweise ein Wellenleiter oder ein Hohlraumresonator sein.

Mit dieser Anordnung wird die Dielektrizitätszahl gemessen, bevor und nachdem sich die Konzentration von mit Dipolmomenten behafteten Substanzen, insbesondere von Biomolekülen oder von Reaktanden bei durch Biomoleküle ausgelösten Reaktionen, geändert hat.

Darüberhinaus erlaubt das erfindungsgemäße Verfahren die Erfassung von Änderungen des Dipolmoments. Interessante Anwendungen sind die Erfassung von Dipolmomentänderungen bei der Bildung von Assoziaten oder bei Änderungen der chemischen Konstitution, z. B. des Redoxzustandes von biologisch relevanten (Makro-)Molekülen. Damit können auch neuartige Biosensoren realisiert werden, die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren arbeiten.

Im folgenden soll zunächst die Funktionsweise des erfindungsgemäßen Verfahrens erläutert werden:

Bei Anwesenheit von Ladungsträgern in einem Fluid, beispielsweise einem Lösungsmittel, zwischen den Elektroden einer kapazitiven Anordnung entsteht ein dielektrisches Relaxationssignal, dessen Relaxationsfrequenz einerseits durch die Konzentration und Beweglichkeiten der Ladungsträger und andererseits durch die Geometrie der kapazitiven Anordnung bestimmt ist. Von den Ladungsträgereigenschaften unabhängig sind einige wichtige Größen des Relaxationssignals, insbesondere der Relaxationsbetrag und die Höhe des Verlustfaktormaximums.

Diese und andere Signalgrößen, die zwar an die Anwesenheit von Ladungsträgern gebunden, jedoch in ihrer Größe von den Ladungsträgerdaten bzw. von Leitfähigkeitsdaten weitgehend unabhängig sind, werden erfindungsgemäß für die Erfassung von zusätzlich vorhandenen Dipolmolekülen (d. h. Molekülen mit elektrischen Dipolmomenten) herangezogen werden. Voraussetzung dafür ist, daß die Relaxationsfrequenz der Dipolmoleküle größer ist als die Relaxationsfrequenz der Ladungsträger in der jeweiligen geometrischen Anordnung. In diesem Fall werden nämlich die vorgenannten Signalgrößen der Ladungsträgerrelaxation als Folge des bei höheren Frequenzen ablaufenden Dipolrelaxationsvorganges in definierter Weise verändert. Beispielsweise wird das Maximum des dielektrischen Verlustfaktors mit zunehmender Konzentration der Dipolmomente erniedrigt. Dabei kann die Erniedrigung des Maximums um einen um Größenordnungen höheren

Betrag erfolgen als die Höhe des der Dipolrelaxation zugehörigen Verlustmaximums. Durch diesen systemimmanenten Verstärkungsfaktor ist das erfindungsgemäße Verfahren zur Messung der Dipolmolekülkonzentration oder — bei bekannter Konzentration — des Dipolmoments empfindlicher als die Messung bei der Dipolrelaxationsfrequenz. Insbesondere können Relaxationssignale, die sonst unter der Nachweisgrenze liegen, durch das erfindungsgemäße Verfahren erfaßbar gemacht werden.

Der Relaxationsbetrag der Ladungsträgerrelaxation wird bei Anwesenheit von Dipolmolekülen konzentrationsproportional erniedrigt, allerdings ohne den beim Verlustfaktor wirksam werdenden Verstärkungsfaktor. Doch besteht auch hier der Vorteil, daß dieser Effekt bei tieferen Frequenzen als der Relaxationsfrequenz des Dipolmoleküls detektiert werden kann. Wenn beispielsweise Dipolmoleküle in einer wäßrigen Flüssigkeit aufgelöst werden, erniedrigt sich unter den obengenannten Bedingungen der Verlustfaktor der Ladungsträgerrelaxation. Bei Häm-Proteinen mit Dipolmomenten von einigen hundert Debye ist es beispielsweise möglich, Konzentrationen unter $10 \mu\text{mol}$ auf diese Art nachzuweisen. Eine interessante Anwendung des Verfahrens ist die Änderung des Dipolmoments bei enzymatischen Reaktionen, wenn z. B. das Substrat ein größeres Dipolmoment besitzt als das Produkt — oder umgekehrt. Ein Beispiel ist der Abbau von Pektinpolymeren durch Pektinase.

Es ist bekannt, daß bei gewissen Enzymen das Dipolmoment eine Rolle spielt bei der Bildung eines zeitweiligen Komplexes zwischen Enzym und Ligand (z. B. Substrat). In diesen Fällen ändert sich das Dipolmoment. Dies ist z. B. der Fall bei der Bildung eines Komplexes zwischen dem Enzym Cytochrom-c-Oxidase und dem Substrat Cytochrom c. Eine Erniedrigung des Dipolmoments kann in diesem Fall durch einen Anstieg des Verlustfaktormaximums der Ladungsträgerrelaxation nachgewiesen werden.

Damit kann über die Konzentration des Zwischenzustandes die Substratkonzentration gemessen werden. Auch Dipoländerungen von Enzymen infolge von Redoxreaktionen sind auf diese Weise nachweisbar.

Bei genügend hoher Empfindlichkeit der dielektrischen Meßanordnung und genügend hoher Konzentration der Enzyme (bzw. der mit einem Dipolmoment behafteten Moleküle) lassen sich solche Änderungen des Dipolmoments auch direkt (d. h. bei der Relaxationsfrequenz des Enzyms bzw. Dipolmoleküls) erfassen. Wenn dies möglich ist, kann man beide Signale verwenden, d. h. das direkte und das nach dem erfindungsgemäßen Verfahren über die Änderung des niederfrequenten Relaxationssignals ermittelte Signal, so daß die Werte redundant und somit mit höherer Meßsicherheit gemessen und eventuelle Störeffekte ausgeschaltet werden können.

Eine andere Anwendung ist der Nachweis von Antigen-Antikörperkomplexen, insbesondere in Form eines Immunsensors.

Für das erfindungsgemäße Verfahren ist es erforderlich, daß die Ladungsträgerrelaxationsfrequenz kleiner als die Dipolrelaxationsfrequenz ist. Dabei sind besonders kleine Werte meßtechnisch von Vorteil:

Eine Erniedrigung der Ladungsträgerrelaxationsfrequenz kann z. B. durch eine geeignete Geometriewahl der kapazitiven Sonde erfolgen. Dabei sollte insbesondere das Verhältnis der Kapazität der Flüssigkeit zu der Kapazität der Isolierschicht klein sein. Eine andere Me-

thode ist die Verringerung der Ionenkonzentration mittels Elektrodialyse. Dabei müssen die Elektrodialysmembranen (oder eine Kombination von Elektrodialysmembranen mit Ultrafiltrations- oder Hyperfiltrationsmembranen oder Dialysmembranen) so gewählt werden, daß die Dipolmoleküle selbst zurückgehalten werden.

Wenn es bei genügend hohem Frequenzabstand zwischen Ladungsträger- und Dipolrelaxation nur darum geht, die Ladungsträgerrelaxation nach tieferen Frequenzen (in einem bequemeren Meßbereich) zu verschieben, kann man die Viskosität eines Mediums erhöhen, indem man beispielsweise viskositäts erhöhende Substanzen zufügt, z. B. (vorzugsweise ungeladene) Polymere wie etwa Polyethylenglykol oder (vorzugsweise ungeladene) Füllstoffe, um dadurch die Relaxationsfrequenz zu tieferen Frequenzen zu verschieben.

Eine andere Möglichkeit der gezielten Frequenzverschiebung ist die Verbindung von Gelen im kapazitiv erfaßten Meßraum. Dazu kann man bekannte Gele einsetzen, die man zur Immobilisierung von Enzymen verwendet.

Die Erfindung wird nachstehend ohne Beschränkung des allgemeinen Erfindungsgedankens anhand von Ausführungsbeispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnung exemplarisch beschrieben, auf die im übrigen bezüglich der Offenbarung aller im Text nicht näher erläuterten erfindungsgemäßen Einzelheiten ausdrücklich verwiesen wird. Es zeigt

Fig. 1 die Verlustfaktorbande für Ladungsträgerrelaxation,

Fig. 2 die Kurve in Fig. 1 in logarithmischer Darstellung,

Fig. 3 die Änderung der Kapazität C, und

Fig. 4 und 5 zwei Beispiele für die Verlustfaktorbande.

Fig. 1 zeigt exemplarisch die Verlustfaktorbande D für Ladungsträgerrelaxation in einem Fluid als Funktion der Frequenz f . Die Verlustfaktorbande D weist bei ca. 2 kHz ein Maximum auf, dessen Höhe von der Anwesenheit von Molekülen mit Dipolmomenten abhängt. Die gestrichelte Kurve gibt den Fall an, daß keine Moleküle mit einem Dipolmoment in das Fluid eingebracht sind, während die ausgezogene Kurve den Fall zeigt, daß Moleküle mit einem Dipolmoment von 350 D mit einer Konzentration c von $10 \mu\text{mol/l}$ vorhanden sind. Der Unterschied des Signals ist hier wesentlich größer als bei der eigentlichen Dipolrelaxationsfrequenz (hier bei 10^7 Hz).

Fig. 2 zeigt die in Fig. 1 dargestellte Kurve in logarithmischer Auftragung der Verlustfaktorbande D, um das Dipolrelaxationsmaximum besser sichtbar zu machen.

Fig. 3 zeigt die Abhängigkeit der Kapazität C der kapazitiven Anordnung von der Frequenz.

Im folgenden sollen zwei numerische Beispiele zur weiteren Erläuterung der Erfindung beschrieben werden:

Beispiel 1

Eine kapazitive Meßsonde mit einem Plattenabstand von 2 mm und einer Isolatorschicht von ca. 10 nm taucht in Wasser geringer Ionenkonzentration (Leitfähigkeit ca. 10^{-4} S/m). Fig. 4 zeigt, daß dabei ein Verlustfaktormaximum von $D_m = 5,1$ bei 2,5 kHz auftritt. Durch die Zugabe von Cytochrom c wird das Verlustfaktormaximum erniedrigt auf 3,5. Die Erniedrigung des Verlust-

maximums entspricht einer Dipolkonzentration von 150 $\mu\text{mol/l}$.

Beispiel 2

Fig. 5 zeigt, daß in einer 0,5%igen Pektinlösung ein Verlustsignal $D_{\text{max}} = 4,9$ mit der Meßsonde von Beispiel 1 gemessen wird. Nach Zugabe Pektinase (Konzentration in der Lösung ca. 2 $\mu\text{mol/l}$) steigt das Signal auf 5,4 an. Bei zehnfach höherer Pektinasemenge erhält man den gleichen Signalzuwachs, d. h. in beiden Fällen erfolgte eine vollständige Umsetzung des Pektins. Durch den Abbau des Pektins wird das gesamte wirksame Dipolmoment erniedrigt. Der Effekt kann dadurch vergrößert werden, daß die entstehenden Pektinmonomere durch eine selektive Membran entfernt werden und ihr Dipolmoment nicht mehr zum Signal beiträgt. Auf diese Weise kann man eine Nachweisempfindlichkeit von ca. 0,5 mmol/l (bezogen auf das Monomer) erreichen.

Durch Änderung der Geometrie der kapazitiven Sonde (Kapazitätserniedrigung bei Erhöhung der Kapazität der Isolierschicht) kann die Nachweisgrenze unter 100 $\mu\text{mol/l}$ gesenkt werden.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Messung des Dipolmoments von in einem Fluid gelösten Molekülen und/oder der Konzentration von Molekülen mit einem Dipolmoment in einem Fluid, mit einer kapazitiven Anordnung, in die das Fluid einbringbar ist, und die mit einem elektrischen Wechselfeld beaufschlagt wird, dadurch gekennzeichnet, daß das Fluid Ladungsträger enthält, deren Relaxationsfrequenz kleiner als die der ein Dipolmoment aufweisenden Moleküle ist, daß die Elektroden der kapazitiven Anordnung durch eine Isolationsschicht gegen das Ladungsträger enthaltende Fluid isoliert sind, und daß aus der Änderung der in Abhängigkeit von der Frequenz gemessenen Dielektrizitätszahl aufgrund der Dipolmomente aufweisenden Moleküle die Größe des Dipolmoments bzw. die Konzentration der Moleküle bestimmt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die komplexe Dielektrizitätszahl oder aus ihr abgeleitete Größen im Bereich der Ladungsträgerrelaxationsfrequenz erfaßt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Änderung des Verlustfaktormaximums im Bereich der Ladungsträgerrelaxationsfrequenz erfaßt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Änderung des Realteils der Kapazität der kapazitiven Anordnung im Frequenzbereich oberhalb der Ladungsträgerrelaxationsfrequenz erfaßt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die mit einem Dipolmoment behafteten Substanzen Substrate oder Produkte einer enzymatischen Reaktion sind.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die mit einem Dipolmoment behafteten Substanzen Enzyme in verschiedenen Zustandsformen wie Grundzustand und Zwischenzustand sind.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß die mit einem Di-

polmoment behafteten Substanzen ein Enzym im Grundzustand und ein Enzym in Form eines Komplexes mit einem Reaktanden sind.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß die mit einem Dipolmoment behafteten Substanzen ein Enzym in oxidiert oder reduzierter Form sind.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die mit einem Dipolmoment behafteten Substanzen Antigene, Antikörper und Antigen-Antikörper-Komplexe sind.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das Fluid Wasser ist und die Ladungsträger Elektrolytionen sind.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das Fluid eine organische Flüssigkeit ist und die Ladungsträger Ionen und/oder geladene Komplexe sind.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Ladungsträger Polyelektrolyte sind.

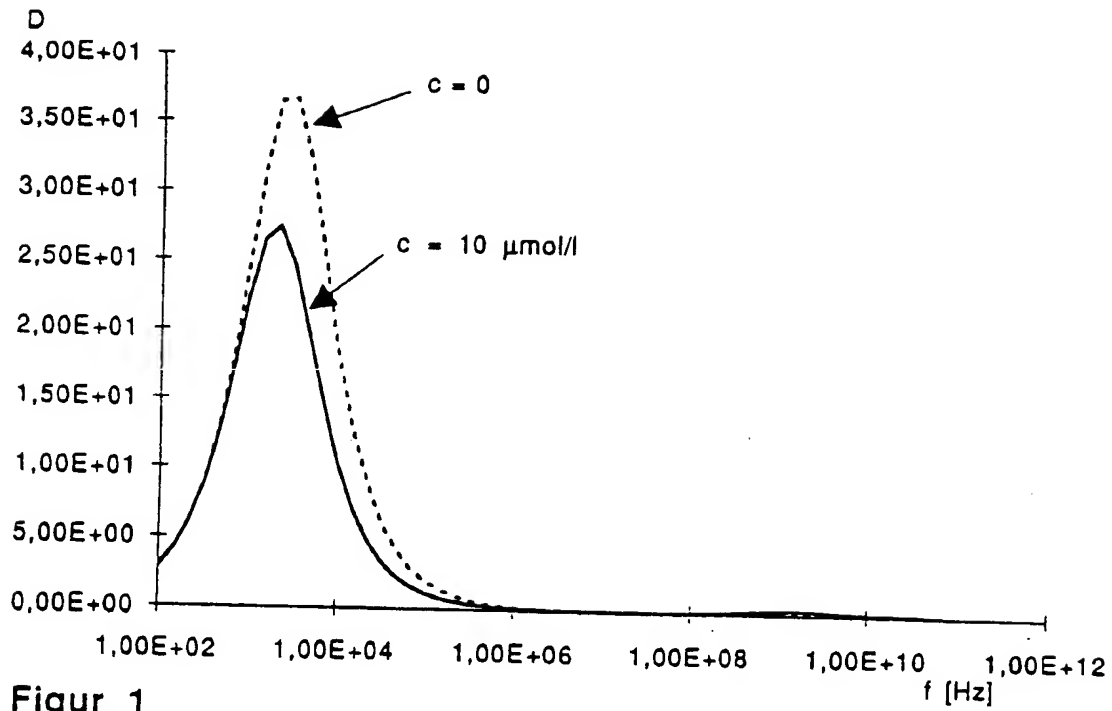
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Verhältnis der Kapazität des Fluids zu der Kapazität der Isolierschicht klein ist.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß zur Reduzierung der Ladungsträgerrelaxationsfrequenz die Ionenkonzentration mittels Elektrodialyse verringert wird.

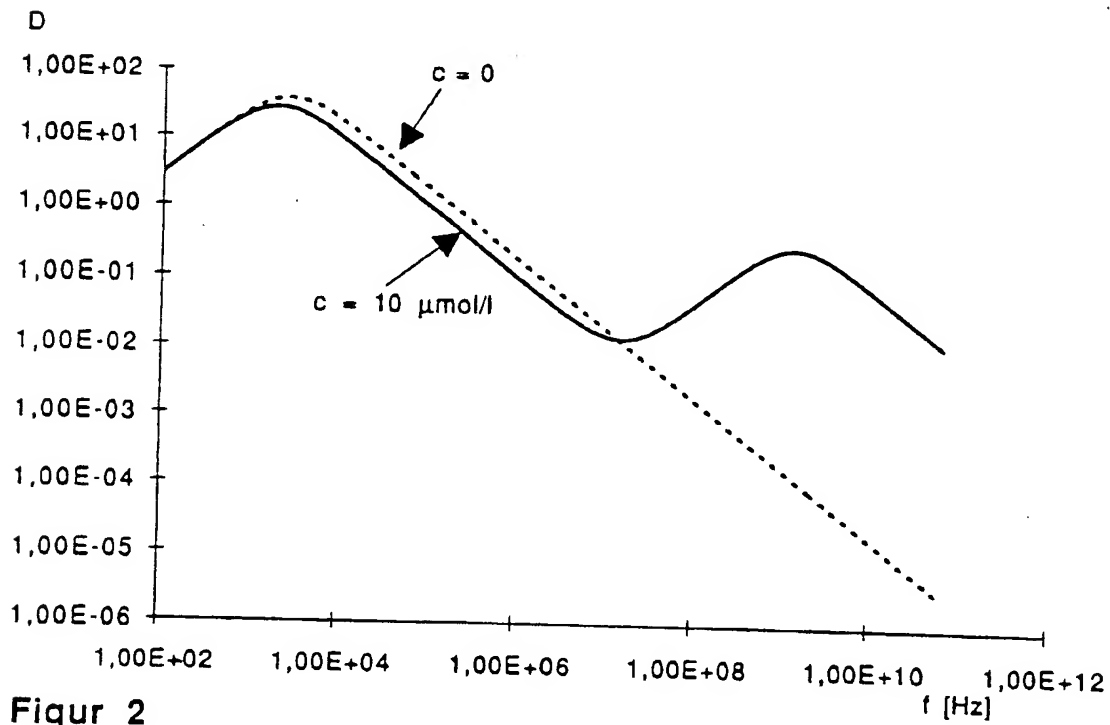
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß zur Reduzierung der Ladungsträgerrelaxationsfrequenz dem Fluid viskositäts erhöhende Substanzen zugesetzt sind.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß in die kapazitive Anordnung Gele zur Verschiebung der Relaxationsfrequenz eingebracht werden.

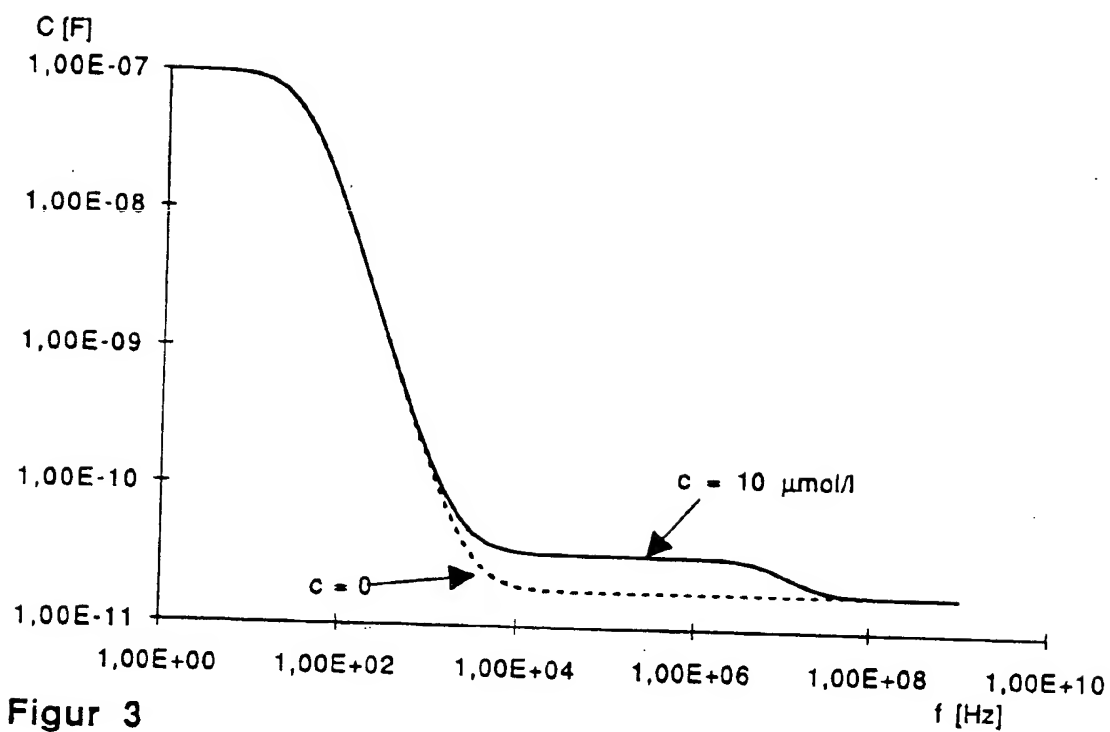
Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen



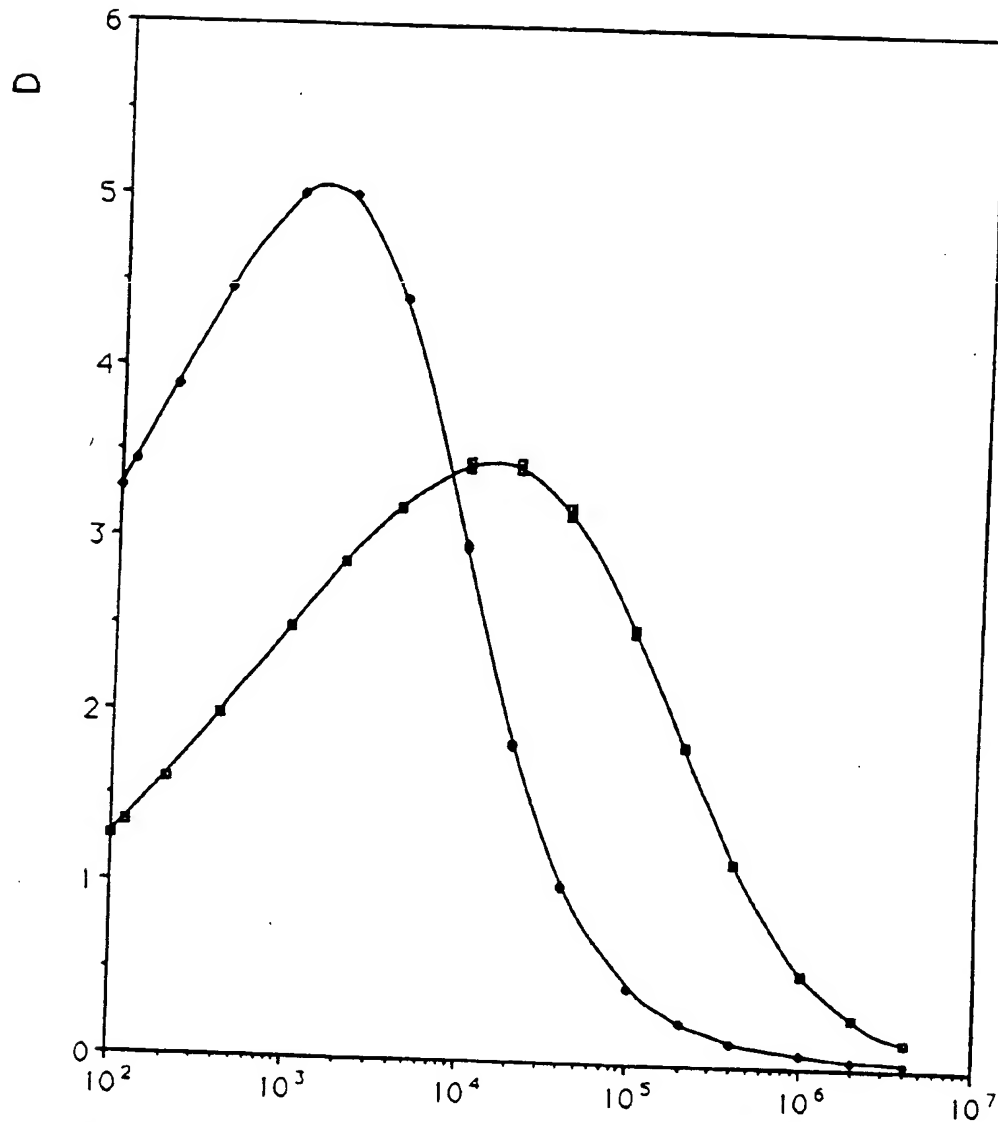
Figur 1



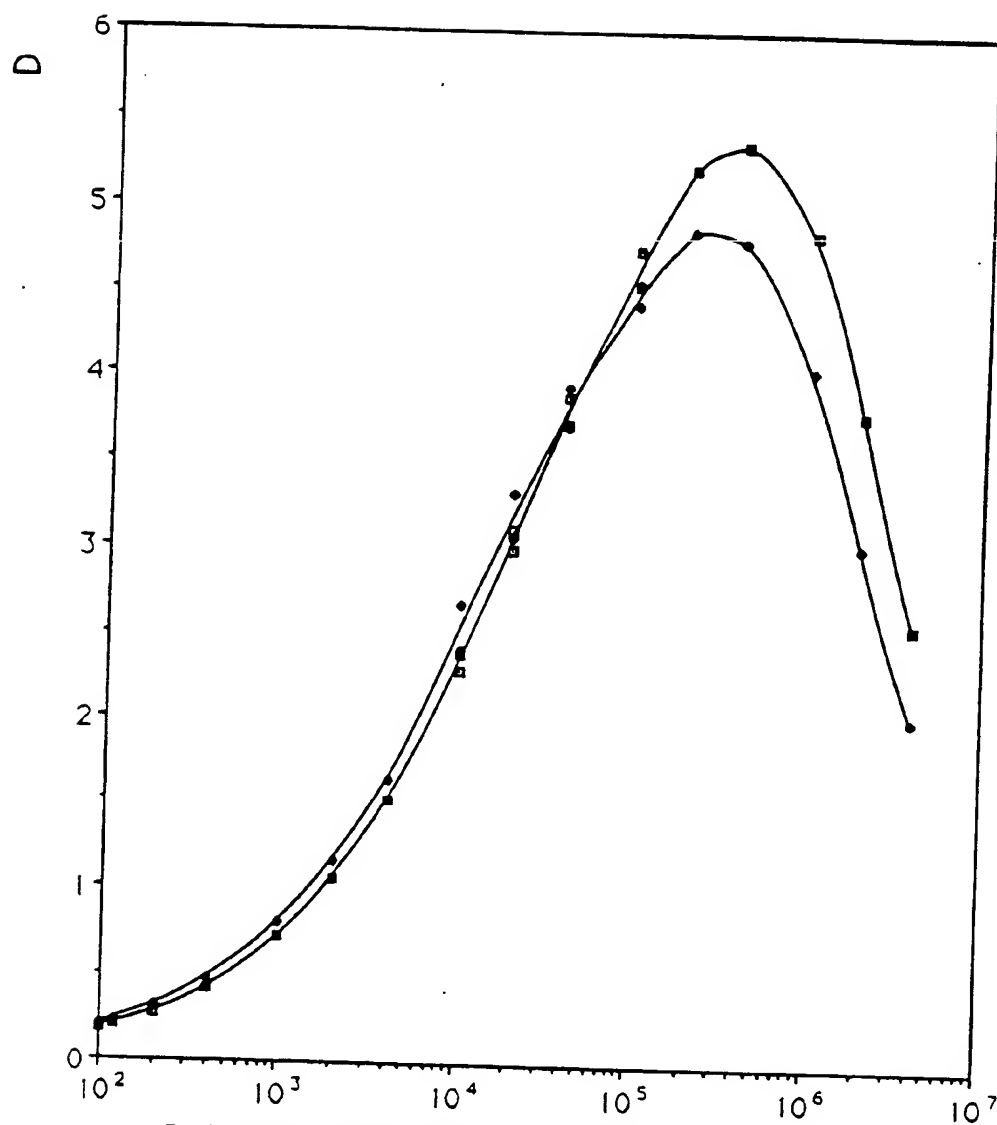
Figur 2



Figur 3



Figur 4 ▪ D (nach Cytochromzugabe) Frequenz [Hz]
 • D (vor Cytochromzugabe)



Figur 5

- D (nach Pektinasezugabe)
 - D (vor Pektinasezugabe)
- Frequenz [Hz]